

A. Eigler · F. Loher · S. Endres

Abteilung für Klinische Pharmakologie, Medizinische Klinik Innenstadt,  
Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München

# Suppression der Synthese des Tumornekrosefaktors

## Zum Thema

Klinische Studien aus den vergangenen 5 Jahren belegen die zentrale Rolle des Tumornekrosefaktors (TNF) im pathophysiologischen Geschehen der rheumatoiden Arthritis und des Morbus Crohn. Die vorliegende Arbeit gibt einen Überblick über die Regulation der Synthese und die vielfältigen Wirkungen dieses Zytokins. So wurden erhöhte TNF-Konzentrationen bei verschiedenen infektiösen und entzündlichen Erkrankungen sowie in Verbindung mit speziellen Therapien nachgewiesen. Darauf aufbauend werden experimentelle therapeutische Strategien zur Hemmung der TNF-Bildung dargestellt.

## Schlüsselwörter

Tumornekrosefaktor · Rheumatoide Arthritis · Morbus Crohn · Zytokine · Signaltransduktion

## Biologie des Tumornekrosefaktors

Der Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) nimmt eine dominierende Rolle im so genannten Zytokinnetzwerk und damit in der Pathogenese zahlreicher infektiöser und entzündlicher Erkrankungen ein. TNF wurde nach seiner Fähigkeit benannt, bei Versuchstieren in transplantierten Tumoren eine hämorrhagische Nekrose zu verursachen [1]. Zehn Jahre nach Beschreibung dieser Eigenschaft wurde TNF- $\alpha$  1985 aufgereinigt und sequenziert [2] und das Gen von verschiedenen Arbeitsgruppen parallel kloniert [3, 4, 5]. Seither sind zahlreiche biologische Eigenschaften dieses Zytokins identifiziert worden, zusätzlich zur Lyse von Tumorzellen und zur Induktion von Kachexie, die ursprünglich zur Erkennung von TNF geführt hatten [6].

Schon im Jahre 1893 war von dem New Yorker Chirurgen Coley beobachtet worden, dass schwere Infektionen in manchen Fällen zur Regression eines malignen Tumors führten [7, 8]. Heute wird dieses Phänomen zumindest zum Teil auf die zytotoxische Wirkung des TNF zurückgeführt.

Die Familie der Tumornekrosefaktoren umfasst 3 Mitglieder:

- ▶ TNF- $\alpha$ ,
- ▶ Lymphotoxin- $\alpha$  (LT- $\alpha$ , auch als TNF- $\beta$  bezeichnet),
- ▶ Lymphotoxin- $\beta$ .

Die Hauptquellen für TNF sind Monozyten und Makrophagen. Das humane TNF wird als Pro-Protein mit 233 Ami-

nosäuren synthetisiert und hat ein Molekulargewicht von 26 kDa. Das Pro-Protein wird durch eine spezifische Metalloproteinase (die auch als „TNF- $\alpha$  converting enzyme“, TACE, bezeichnet wird) in die monomere Form gespalten, die 157 nicht-glykosylierte Aminosäuren umfasst und ein Molekulargewicht von 17 kDa hat. Unter physiologischen Bedingungen bildet TNF ein nicht-kovalent gebundenes glockenförmiges Homotrimer [9].

Die TNF-Wirkungen werden durch Quervernetzung membrangebundener Rezeptormoleküle vermittelt (TNF-Rezeptor I, TNFRI, p55; TNF-Rezeptor II, TNFRII, p75; [10]). In der TNFRI-knock-out-Maus wurde eine Resistenz gegenüber dem Endotoxinschock demonstriert, andererseits war eine Infektion mit *Listeria monocytogenes* letal [11].

Die extrazellulären Anteile beider TNF-Rezeptoren liegen auch als lösliche Form im Serum vor, können weiterhin TNF binden und damit die akuten Wirkungen des TNF abschwächen [12, 13]. Unter bestimmten Bedingungen konservieren diese natürlichen TNF-Inhibitoren jedoch auch TNF [14, 15, 16].

Nach Bindung an die membranständigen Rezeptoren übt TNF eine Reihe unterschiedlicher Wirkungen aus (Abb. 1). Die Signaltransduktion distal des TNF-Rezeptors wird unter anderem von Phospholipasen C [17] und Sphin-

Prof. Dr. S. Endres

Abteilung für Klinische Pharmakologie,  
Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität,  
Ziemssenstraße 1, 80336 München,  
E-Mail: sendres@med.uni-muenchen.de



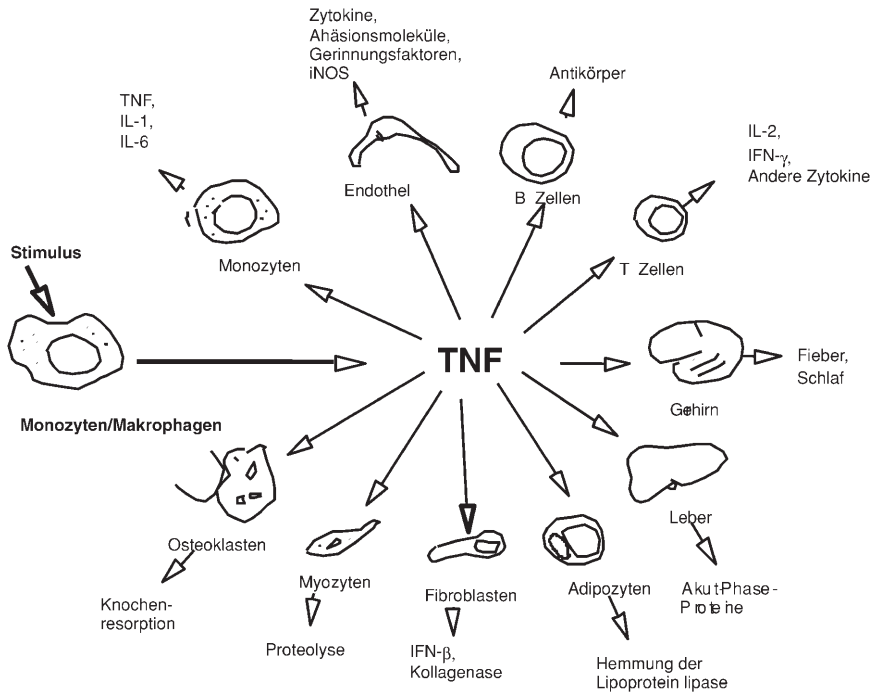


Abb. 1 ▲ Die biologischen Aktivitäten des TNF. Verschiedene Zelltypen können TNF produzieren, aber die Hauptquelle für dieses Zytokin sind Monozyten und Makrophagen. TNF induziert eine Reihe von proinflammatorischen Veränderungen in Endothelzellen wie die Produktion weiterer proinflammatorischer Zytokine, die Expression von Adhäsionsmolekülen, die Freisetzung prokoagulatorischer Substanzen und die Induktion der iNOS. Diese Wirkungen tragen bei extremer Ausprägung zum septischen Schock bei. TNF stimuliert außerdem B- und T-Lymphozyten, induziert Fieber, hemmt die Lipoproteinlipase in Adipozyten (dies trägt zur TNF-vermittelten Kachexie bei) und stimuliert Hepatozyten zur Produktion von Akutphase-Proteinen. Bei der chronischen Polyarthrit bilden Fibroblasten und Osteoklasten Ziele für TNF

gomyelinasen vermittelt, die Ceramide aus Sphingomyelin freisetzen und ceramidabhängige Proteinkinasen aktivieren [18].

Nachdem die Gabe von Anti-TNF-Antikörpern in Tierexperimenten des septischen Schocks positive Ergebnisse erbracht hatten, wurden hohe Erwartungen an eine Therapie des septischen Schocks beim Menschen geweckt. Diese wurden jedoch nicht erfüllt. Dagegen wurden bei chronisch entzündlichen Erkrankungen – der rheumatoiden Arthritis und dem Morbus Crohn – eindrucksvolle Erfolge mit Anti-TNF-Antikörpern und mit TNF-Rezeptorfusionsproteinen erzielt. Auf diese Studienergebnisse gehen 2 weitere Arbeiten in diesem Heft näher ein.

## TNF als Krankheitsmediator

Die empfindlichste Methode, um zirkulierendes TNF nachzuweisen, basiert auf der extrem hohen Bindungsaffinität und -spezifität des p55-TNF-Rezeptors. Bei gesunden Probanden konnte mit dieser

Methode kein TNF im Plasma nachgewiesen werden [19]. Die Nachweisgrenze dieses Assays ist 200 attomolar ( $10^{-18}$  mol/l), das entspricht 120.000 TNF-Trimeren oder 10 Femtogramm in 1 ml Plasma. Im Gegensatz dazu werden bei akuten Erkrankungen wie dem septischen Schock TNF-Konzentrationen im nanomolaren Bereich ( $10^{-9}$  mol/l) nachgewiesen.

Die Synthese des TNF wird in Monozyten und Makrophagen durch unterschiedliche exogene Substanzen wie z. B. Endotoxin und  $\beta$ -Glukane sowie auch durch endogene Mediatoren wie IL-1 induziert. Hohe Konzentrationen von TNF im Plasma konnten bei zahlreichen infektiösen und entzündlichen Erkrankungen nachgewiesen werden (Tabelle 1).

Hohe Konzentrationen von TNF wurden auch in therapieassoziierten Syndromen nachgewiesen wie der Gabe von Interleukin-2 (IL-2) zur Therapie von soliden Tumoren und nach der Applikation von Anti-CD3-Antikörpern zur Therapie der akuten Abstoßungsreaktion nach Organtransplantation. Die Hemmung

der Bildung [20] oder der Aktivität [21] von TNF während der Gabe von Anti-CD3-Antikörpern schwächt deren Nebenwirkungen ab. Ein Nutzen durch TNF-Antagonismus erscheint somit grundsätzlich bei den in der Tabelle 1 aufgeführten Erkrankungen möglich.

## Hemmung der TNF-Synthese und -Wirkung

TNF-hemmende Substanzen können in 3 Gruppen eingeteilt werden (Tabelle 2):

- ▶ Substanzen, die die Bildung von TNF hemmen wie Phosphodiesteraseinhibitoren, Prostaglandine, Adenosin, Kortikosteroide und Interleukin 10.
- ▶ Substanzen, die die Prozessierung des TNF-Pro-Proteins durch Hemmung der spezifischen Metalloproteinase verhindern.
- ▶ Substanzen, die die Wirkung des aktiven TNF abschwächen wie Anti-TNF-Antikörper und TNF-Rezeptor-Fc-Fusionsproteine.

Einen Überblick über TNF-hemmende Wirkprinzipien gibt Abb. 2. Die Hemmung der TNF-Synthese kann an verschiedenen Punkten ansetzen: an der Transkription, der Stabilität der mRNA, und der Translation. Einige Hemmstoffe greifen an mehreren Stellen an, aber für die meisten kann ein bevorzugter Angriffspunkt nachgewiesen werden. So hemmen die Phosphodiesteraseinhibitoren überwiegend die Transkription und Dexamethason eher die Translation [22]. Thalidomid verkürzt die Halbwertszeit der TNF-RNA [23]. Antisense-Oligonukleotide führen zu einer spezifischen Hemmung der TNF-Translation [24]. Dabei müssen jedoch spezielle experimentelle Bedingungen geschaffen werden, da Oligonukleotide sonst auch zu einer Induktion der TNF-Synthese führen können [25].

In den folgenden Abschnitten wird näher auf Strategien zur Hemmung der TNF-Synthese eingegangen, die im Tierexperiment oder schon beim Menschen in klinischen Studien untersucht worden sind.

## Ansätze zur Erhöhung des sekundären Messengers cAMP

Im Jahre 1988 konnten Kunkel et al. [26] erstmals zeigen, dass Substanzen, die zy-

Tabelle 1

**Erkrankungen mit messbaren TNF-Konzentrationen im Plasma**

**Infektionen**

- Sepsis (Waage, 1989; Marks, 1990)
- Bakterielle Meningitis (Waage, 1989)
- Zerebrale Malaria (Grau, 1989)
- AIDS (Lahdevirta, 1988)

**Immunpathogene Erkrankungen**

- Rheumatoide Arthritis<sup>a</sup> (Maury, 1989)
- Morbus Crohn<sup>a</sup> (Murch, 1991)
- Sarkoidose (Asano, 1991)
- Multiple Sklerose (Franciotta, 1989; Sharief, 1992)
- Kawasaki-Syndrom (Maury, 1989)
- Transplantat-Abstoßung (Niere, Herz; Maury, 1987; Chollet-Martin, 1990)

**Organversagen**

- Adult respiratory distress syndrome, ARDS (Roten, 1991; Hyers, 1991)
- Herzinsuffizienz (NYHA III-IV; Levine, 1990)
- Myokardinfarkt (Maury, 1989)
- Akutes Leberversagen (Muto, 1988)

**Therapieassoziierte Syndrome**

- Interleukin-2-Infusion (Mier, 1988)
- Anti-CD3-Antikörper-Infusion (Chatenoud, 1989)
- Hämodialyse (Macdonald, 1993)
- Jarisch-Herxheimer-Reaktion<sup>a</sup> (Negussie, 1992)
- Gelbfieberimpfung (Hacker, 1998)
- Graft-versus-host-Syndrom (Holler, 1990)

<sup>a</sup> Bei diesen Erkrankungen wurde ein therapeutischer Effekt mit Anti-TNF-Antikörper nachgewiesen.

klisches Adenosinmonophosphat erhöhen, die TNF-Synthese in murinen Makrophagen hemmen. Diese Stoffe umfassen Phosphodiesteraseinhibitoren, die den Abbau von cAMP verhindern, und Prostaglandine, die die Adenylzyklase über G-Proteine aktivieren und auf diese Weise zu einer verstärkten cAMP-Bildung führen. Darüber werden die cAMP-abhängigen Proteinkinasen A aktiviert, was in einer Phosphorylierung von Zielproteinen wie etwa cAMP-responsiv-elements (CRE)-Bindungsproteinen mündet. Diese Transkriptionsfaktoren binden an spezifische Sequenzen in der Promotorregion bestimmter Gene. Eine entsprechende CRE-spezifische Sequenz wurde in der 5'-flankierenden Region des TNF-Gens beschrieben [27].

Die Expression des TNF ist weiterhin abhängig von der Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF-κB (Nuclear factor-κB). Mehrere NF-κB-bindende Regionen wurden in der Promotorregion des TNF-Gens identifiziert [28]. NF-κB ist physiologischer Weise an seinen

spezifischen Inhibitor IκB im Zytosol gebunden. Im Falle einer Aktivierung dissoziiert dieser Komplex, und NF-κB gelangt in den Zellkern. Die Aktivierung von NF-κB kann durch Antioxidantien gehemmt werden [29]. Eine Hemmung der Interaktion des NF-κB mit seinem Motiv wurde für Pentoxifyllin [30] berichtet, einem unspezifischen Phosphodiesteraseinhibitor.

Unter den klinisch eingesetzten Phosphodiesterasehemmern ist Pento-

xifyllin die Substanz, die am eingehendsten bezüglich der TNF-hemmenden Wirkungen untersucht wurde. So wurden Patienten, die Anti-CD3-monoklonale-Antikörper zur Behandlung einer akuten Transplantatabstoßungsreaktion erhielten, zur Hemmung der Nebenwirkung durch TNF mit Pentoxifyllin behandelt [20, 31].

**Rolipram**

Als interessante Alternative zum Einsatz des unspezifischen Phosphodiesterasehemmstoffes Pentoxifyllin, erscheint der spezifische Typ-IV-Phosphodiesteraseinhibitor Rolipram, der 500-mal wirksamer die TNF-Synthese hemmt [32]. Die Typ-IV-Phosphodiesterase überwiegt in Monozyten [33] und bildet daher einen guten Angriffspunkt für die Hemmung cAMP-abhängiger Funktionen dieser Zellen.

Außerdem konnte für die Kombination von Rolipram mit Prostaglandinen (Prostaglandin E2 und Prostazyklinanaloge) eine synergistische Wirkung in Bezug auf die cAMP-erhöhende [34] und die TNF-hemmende Wirkung [35] gezeigt werden. Diese Synergie könnte relevant für den Einsatz von Rolipram bei lokalen Entzündungsprozessen mit hohen interstitiellen Konzentrationen an Prostaglandin E2 sein. Die entzündungshemmende Wirkung von cAMP-erhöhenden Substanzen wird jedoch nicht nur über eine Hemmung der TNF-Synthese vermittelt. So wird z. B. auch das antiinflammatorische Zytokin IL-10 durch cAMP-Erhöhung verstärkt exprimiert [36, 37].

Mehrere tierexperimentelle Arbeiten belegen die Wirksamkeit einer spezifischen Hemmung der Phosphodiesterase in vivo. In einem Rattenmodell der experimentellen Autoimmunenzephalo-

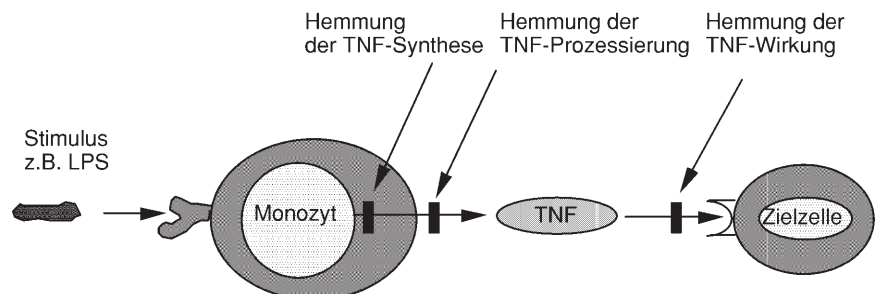


Abb. 2 ▲ TNF wird von Monozyten nach Stimulation mit Lipopolysacchariden gebildet. TNF kann auf 3 Ebenen gehemmt werden: Synthese, Prozessierung und Wirkung auf Zielzellen

Tabelle 2

## TNF-hemmende Substanzen

### Hemmung der TNF-Synthese

• Zytokine	Interleukin-4 (Dayer, 1994) Interleukin-10 (Marchant, 1994; Siegmund, 1997) Transforming growth factor (Espevik, 1987) Ciliary neurotrophic factor (Benigni, 1995)
• Andere endogene Mediatoren	Kortikosteroide (Han, 1990) Prostaglandine (Kunkel, 1988; Eisenhut, 1993; Sinha, 1995) Adenosin (Parmely, 1993; Bouma, 1994; Eigler, 1997) Histamin (Vannier, 1991) Stickstoffmonoxid (Florquin, 1994; Eigler, 1995) Spermin (Zhang, 1997) Retinolsäure (Mehta, 1994) n-3 ungesättigte Fettsäuren (Endres, 1989)
• Medikamente und andere Substanzen	Pentoxifyllin (Han, 1990; Endres, 1991) Rolipram (Semmler, 1993) Cylosporin A (Remick, 1989) Chlorpromazin (Gadina, 1991; Zinetti, 1995) Thalidomid (Moreira, 1993) Pyrrolidinedithiocarbamat (Ziegler-Heitbrock, 1993) Taurolidin (Bedrosian, 1991) Antisense-Oligonukleotide (Hartmann, 1996) Tetraivalent guanylhydrazone compound (CNI-1493; Bianchi, 1996)

### Hemmung der TNF-Prozessierung

• Inhibitoren der TNF-Metalloproteinasen	Compound 2 (Mohler, 1994) GI 129471 (McGeehan, 1994)
--	---

### Hemmung der TNF-Wirkung

• Anti-TNF-Antikörper	(Exley, 1990; Elliott, 1994; Stack, 1997; Reinhart, 1996; Fekade, 1996; Abraham, 1995)
• Lösliche TNF-Rezeptoren	(Mohler, 1993; Fisher, 1996)

myelitis ließ sich eine TNF-Suppression und Verbesserung des Krankheitsverlaufs durch Gabe von Rolipram erreichen [38]. Die therapeutische Wirkung wurde in einem Primatenmodell (Marmoset-Affen) der Autoimmunenzephalomyelitis bestätigt [39].

Weiterhin konnte durch die Therapie mit Rolipram die Suppression der TNF-Synthese und ein Überlebensvorteil in einem Rattenmodell des ARDS gezeigt werden [40]. In einem Mausmodell der kollageninduzierten Arthritis konnte Rolipram eine Hemmung der TNF-Synthese und einen Therapieerfolg erzielen [41]. Die Autoren konnten die Wirksamkeit von Rolipram in einem Maus-Kolitis-Modell nachweisen [42].

Rolipram wurde in den frühen 1980er Jahren synthetisiert [43], als Antidepressivum in klinischen Studien untersucht, aber nicht bis zur Marktreife gebracht. Rolipram wurde nie beim Menschen mit der Absicht untersucht, die TNF-Synthese zu hemmen. Derzeit werden von mehreren pharmazeutischen Unternehmen spezifische Typ-IV-Phosphodiesterasehemmstoffe entwickelt oder bereits in klinischen Studien eingesetzt. Überwiegend werden im Rahmen dieser Studien Patienten mit Asthma bronchiale untersucht.

### Thalidomid

Erstmals 1991 wurde gezeigt, dass ein Teil der antiinflammatorischen Wirkung

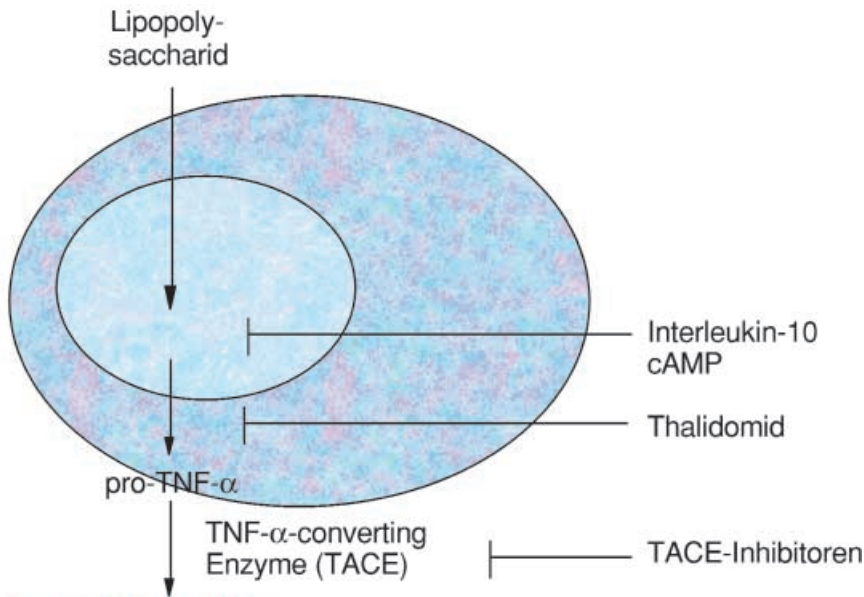
von Thalidomid (früher Contergan®) über eine Hemmung der TNF-Synthese (Abb. 3) vermittelt wird [44]. Thalidomid wurde bei mehreren Erkrankungen eingesetzt, die mit erhöhten TNF-Konzentrationen einhergehen. So liegen Arbeiten zur Therapie der chronischen Graft-versus-host-Erkrankung, der chronischen Polyarthritis, der Sarkoidose und des HIV-assoziierten Wasting-Syndroms vor (Übersicht in [45]).

Zwei kürzlich erschienene offene klinische Studien zur Gabe von Thalidomid bei Patienten mit steroidabhängigem M. Crohn beschrieben ein klinisches Ansprechen schon nach 4 Wochen in 58% und 55% der behandelten Patienten. In einem kritischen Editorial wurden diese Ergebnisse vorsichtig positiv bewertet und ein möglicher Einsatz bei Patienten gesehen, die Infliximab nicht vertragen [45]. Eindringlich wurde jedoch aufgrund der bekannten Teratogenität von Thalidomid vor einem unkritischen Einsatz gewarnt. Die Gabe von Thalidomid darf nur unter strengsten Kontrollmaßnahmen erfolgen und auch unter dieser Vorgabe erst nach Vorliegen von positiven Ergebnissen von randomisierten, kontrollierten klinischen Studien.

### Interleukin-10

Interleukin-10 wurde ursprünglich als ein Produkt einer bestimmten Untergruppe von T-Helferzellen (Th<sub>2</sub>-Zellen) identifiziert, das die Proliferation, Entwicklung und Funktion einer anderen T-Helferzellgruppe (Th<sub>1</sub>-Zellen) hemmt [46]. IL-10 wird von verschiedenen Zellen wie B-Zellen, B-Zell-Lymphomen, Monozyten, Keratinozyten und Mastzellen gebildet. Entsprechend des ursprünglichen Namens – Zytokinsynthese-inhibierender Faktor – hemmt IL-10 die Produktion verschiedener proinflammatorischer Zytokine, insbesondere TNF und IL-1 in Monozyten und Makrophagen.

Ein protektiver Effekt für IL-10 konnte in einem Mausmodell der letalen Endotoxinämie gezeigt werden. Auch in einem Kolitismodell der Maus wurde ein Therapieerfolg mit IL-10 erreicht [47]. In gesunden Probanden hemmt IL-10 die Ex-vivo-Synthese proinflammatorischer Zytokine. Nach Endotoxingabe bei freiwilligen Probanden wurde eine verminderte TNF-Konzentration nach IL-



### Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$

Abb. 3 ▲ Pharmakologische Ansatzpunkte zur Hemmung der TNF-Synthese

10-Applikation gemessen. Aufgrund dieser Daten wurden klinische Studien zur Wirkung von IL-10 bei Patienten mit M. Crohn durchgeführt. Die Ergebnisse von 3 kontrollierten Studien hierzu sind im Beitrag „Modulation von Zytokinen bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen“ dieses Heftes zusammengefasst.

Ob und welche der hier aufgezeigten Strategien zur Hemmung des TNF klinische Relevanz erlangen werden, ist derzeit noch nicht abzusehen. Insbesondere die meist nur mündlichen Berichte von gehäuftem Auftreten von Lymphomen und Karzinomen unter Therapie mit Anti-TNF-Antikörpern dämpfen die Euphorie, die diese innovative Therapieform ausgelöst hat.

### Fazit für die Praxis

Für Tumornekrosefaktor (TNF) ist durch Therapiestudien bei Menschen eine notwendige Mediatorrolle bei M. Crohn und bei chronischer Polyarthrits belegt. Der Therapieerfolg von blockierenden Antikörpern und Rezeptorfusionsproteinen unterstreicht die Bedeutung der Suche nach weiteren therapeutischen Angriffspunkten an diesem Zytokin. Eine Vielzahl körpereigener Mediatoren und exogener Wirkstoffe wurden identifiziert, die die Synthese von TNF in therapeutischen Dosierungen hemmen. Dass diese Synthesehemmung

auch einen günstigen Einfluss auf den Erkrankungsverlauf nimmt, wurde im vergangenen Jahr in Pilotstudien zur Gabe von Thalidomid bei M. Crohn gezeigt. Aus der großen Gruppe der TNF-synthesehemmenden Substanzen sind spezifische Phosphodiesteraseinhibitoren (vom Typ IV) in der klinischen Entwicklung am weitesten fortgeschritten. Sie werden derzeit in Phase-III-Studien für Patienten mit Asthma bronchiale geprüft. Falls sie zur Zulassung kommen, wird eine Indikationsausweitung auf andere TNF-vermittelte Erkrankungen untersucht werden.

### Literatur

1. Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B (1975) An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 72: 3666–3670
2. Aggarwal BB, Kohr WJ, Hass PE et al. (1985) Human tumor necrosis factor. Production, purification, and characterization. *J Biol Chem* 260: 2345–2354
3. Pennica D, Nedwin GE, Hayflick JS et al. (1984) Human tumour necrosis factor: precursor structure, expression and homology to lymphotoxin. *Nature* 312: 724–729
4. Shirai T, Yamaguchi H, Ito H, Todd CW, Wallace RB (1985) Cloning and expression in *Escherichia coli* of the gene for human tumour necrosis factor. *Nature* 313: 803–806
5. Wang AM, Creasey AA, Ladner MB, Lin LS, Strickler J, Van AJ, Yamamoto R, Mark DF (1985) Molecular cloning of the complementary DNA for human tumor necrosis factor. *Science* 228: 149–154

6. Beutler B, Cerami A (1986) Cachectin and tumor necrosis factor as two sides of the same biological coin. *Nature* 320: 584–588
7. Coley WB (1893) The treatment of malignant tumors by repeated inoculations of erysipelas: with a report of ten original cases. *Am J Med Sci* 105: 487–511
8. Coley WB (1906) Late results of the treatment of inoperable sarcoma by the mixed toxins of erysipelas and *Bacillus prodigiosus*. *Am J Med Sci* 131: 375–430
9. Jones EY, Stuart DI, Walker NPC (1989) Structure of tumor necrosis factor. *Nature* 338: 225–228
10. Bazzoni F, Beutler B (1996) The tumor necrosis factor ligand and receptor families. *N Engl J Med* 334: 1717–1725
11. Pfeffer K, Matsuyama T, Kundig TM et al. (1993) Mice deficient for the 55 kd tumor necrosis factor receptor are resistant to endotoxic shock, yet succumb to *L. monocytogenes* infection. *Cell* 73: 457–467
12. Engemann H, Aderka D, Rubinstein M, Rotman D, Wallach D (1989) A tumor necrosis factor-binding protein purified to homogeneity from human urine protects cells from tumor necrosis factor toxicity. *J Biol Chem* 264: 11974–11980
13. Engemann H, Novick D, Wallach D (1990) Two tumor necrosis factor-binding proteins purified from human urine. Evidence for immunological cross-reactivity with cell surface tumor necrosis factor receptors. *J Biol Chem* 265: 1531–1536
14. Aderka D, Engemann H, Maor Y, Brakebusch C, Wallach D (1992) Stabilization of the bioactivity of tumor necrosis factor by its soluble receptors. *J Exp Med* 175: 323–329
15. Mohler KM, Torrance DS, Smith CA et al. (1993) Soluble tumor necrosis factor (TNF) receptors are effective therapeutic agents in lethal endotoxemia and function simultaneously as both TNF carriers and TNF antagonists. *J Immunol* 151: 1548–1561
16. Klein B, Brailly H (1995) Cytokine-binding proteins: stimulating antagonists. *Immunol Today* 16: 216–220
17. Schutze S, Berkovic D, Tomsing O, Unger C, Kronke M (1991) Tumor necrosis factor induces rapid production of 1,2-diacylglycerol by a phosphatidylcholine-specific phospholipase C. *J Exp Med* 174: 975–988
18. Wiegmann K, Schutze S, Machleidt T, Witte D, Kronke M (1994) Functional dichotomy of neutral and acidic sphingomyelinases in tumor necrosis factor signaling. *Cell* 78: 1005–1015
19. Poltorak A, Peppel K, Beutler B (1994) Receptor-mediated label-transfer assay (RELAY) – a novel method for the detection of plasma tumor necrosis factor at attomolar concentrations. *J Immunol Methods* 169: 93–99
20. Zabel P, Leimenstoll G, Schröder P, Elfeldt R, Schlaak M, Niedermayer W (1991) Pentoxifyllin suppresses OKT3-induced tumor necrosis factor- $\alpha$  formation in renal transplant recipients. *Z Transplant Med* 3: 62–65

21. Eason JD, Pascual M, Wee S et al. (1996) Evaluation of recombinant human soluble dimeric tumor necrosis factor receptor for prevention of OKT3-associated acute clinical syndrome. *Transplantation* 61: 224–228
22. Han J, Thompson P, Beutler B (1990) Dexamethasone and pentoxifylline inhibit endotoxin-induced cachectin/tumor necrosis factor synthesis at separate points in the signaling pathway. *J Exp Med* 172: 391–394
23. Moreira AL, Sampaio EP, Zmuidzinis A, Frindt P, Smith KA, Kaplan G (1993) Thalidomide exerts its inhibitory action on tumor necrosis factor- $\alpha$  by enhancing messenger RNA degradation. *J Exp Med* 177: 1675–1680
24. Hartmann G, Waller-Fontaine K, Eigler A et al. (1996) Specific suppression of human tumor necrosis factor- $\alpha$  synthesis by antisense oligodeoxynucleotides. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev* 6: 291–299
25. Hartmann G, Krug A, Waller-Fontaine K, Endres S (1996) Oligodeoxynucleotides enhance lipopolysaccharide-stimulated synthesis of tumor necrosis factor: dependence on phosphorothioate modification and reversal by heparin. *Mol Med* 2: 429–438
26. Kunkel SL, Spengler M, May MA, Spengler R, Larrick J, Remick D (1988) Prostaglandin E<sub>2</sub> regulates macrophage-derived tumor necrosis factor gene expression. *J Biol Chem* 263: 5380–5384
27. Lalli E, Sassone-Corsi P (1994) Signal transduction and gene regulation: the nuclear response to cAMP. *J Biol Chem* 269: 17359–17362
28. Baeuerle PA, Henkel T (1994) Function and activation of NF- $\kappa$ B in the immune system. *Annu Rev Immunol* 12: 141–179
29. Schreck R, Albermann K, Baeuerle PA (1992) Nuclear factor kappaB – an oxidative stress-responsive transcription factor of eukaryotic cells (a review). *Free Radic Res Commun* 17: 221–237
30. Biswas DK, Ahlers CM, Dezube BJ, Pardee AB (1993) Cooperative inhibition of NF-kappa B and Tat-induced superactivation of human immunodeficiency virus type 1 long terminal repeat. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90: 11044–11048
31. Vincenti FG, Vasconcelos M, Birnbaum JL et al. (1993) Pentoxifylline reduces the first-dose reactions following OKT3. *Transplant Proc* 25: 57–59
32. Semmler J, Wachtel H, Endres S (1993) The specific type IV phosphodiesterase inhibitor rolipram suppresses tumor necrosis factor- $\alpha$  production by human mononuclear cells. *Int J Immunopharmacol* 15: 409–413
33. Torphy TJ, Udem BJ (1991) Phosphodiesterase inhibitors: new opportunities for the treatment of asthma. *Thorax* 46: 512–523
34. Sinha B, Semmler S, Eisenhut T, Eigler A, Endres S (1995) Enhanced tumor necrosis factor suppression and cyclic adenosine monophosphate accumulation by combination of phosphodiesterase inhibitors and prostanoids. *Eur J Immunol* 25: 147–153
35. Greten TF, Sinha B, Haslberger C, Eigler A, Endres S (1996) Cicaprost and the specific type IV phosphodiesterase inhibitor rolipram synergize in suppression of tumor necrosis factor- $\alpha$  synthesis. *Eur J Pharmacol* 299: 229–233
36. Platzer C, Meisel C, Vogt K, Platzer M, Volk H-D (1995) Up-regulation of monocytic IL-10 by tumor necrosis factor- $\alpha$  and cAMP elevating drugs. *Int Immunol* 7: 517–523
37. Eigler A, Siegmund B, Emmerich U, Baumann KH, Hartmann G, Endres S (1998) Anti-inflammatory activities of cAMP-elevating agents: Enhancement of interleukin-10 synthesis and concurrent suppression of tumor necrosis factor production. *J Leukoc Biol* 63: 1–7
38. Sommer N, Löschnann PA, Northoff GH et al. (1995) The antidepressant rolipram suppresses cytokine production and prevents autoimmune encephalomyelitis. *Nat Med* 1: 244–248
39. Genain CP, Roberts T, Davis RL et al. (1995) Prevention of autoimmune demyelination in non-human primates by a cAMP-specific phosphodiesterase inhibitor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92: 3601–3605
40. Turner CR, Andresen CJ, Smith WB, Watson JW (1994) Effects of rolipram on responses to acute and chronic antigen exposure in monkeys. *Am J Respir Crit Care Med* 149: 1153–1159
41. Ross SE, Williams RO, Mason LJ et al. (1997) Suppression of TNF- $\alpha$  expression, inhibition of Th1 activity, and amelioration of collagen-induced arthritis by rolipram. *J Immunol* 159: 6253–6259
42. Hartmann G, Bidlingmaier C, Siegmund B et al. (2000) Specific type IV phosphodiesterase inhibitor Rolipram mitigates experimental colitis in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 292: 22–30
43. Wachtel H (1983) Potential antidepressant activity of rolipram and other selective cyclic adenosine 3',5'-monophosphate phosphodiesterase inhibitors. *Neuropharmacology* 22: 267–272
44. Sampaio EP, Sarno EN, Galilly R, Cohn ZA et al. (1991) Thalidomide selectively inhibits tumor necrosis factor alpha production by stimulated human monocytes. *J Exp Med* 173: 699–703
45. Sands BE, Podolsky DK (1999) New life in a sleeper: thalidomide and Crohn's disease. *Gastroenterology* 117: 1485–1488
46. Fiorentino DF, Bond MW, Mosmann TR (1989) Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. *J Exp Med* 170: 2081–2095
47. Tomoyose M, Mitsuyama K, Ishida H, Toyonaga A, Tanikawa K (1998) Role of interleukin-10 in a murine model of dextran sulfate sodium-induced colitis. *Scand J Gastroenterol* 33: 435–40